

**EKSPRESI COX-2 PADA JARINGAN MATA TIKUS KATARAK
YANG DIINDUKSI *METHYL NITROSO UREA* DENGAN
PEMBERIAN FITOPREVENTIF INFUS DAUN KITOLOD
(*LAURENTIA LONGIFLORA*)**



MARIA BRIGITA HERDYANA

2443011109

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2015

**EKSPRESI COX-2 PADA JARINGAN MATA TIKUS KATARAK
YANG DIINDUKSI *METHYL NITROSO UREA* DENGAN
PEMBERIAN FITOPREVENTIF INFUS DAUN KITOLOD
(*LAURENTIA LONGIFLORA*)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata I
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

**OLEH :
MARIA BRIGITA HERDYANA
2443011109**

Telah disetujui pada tanggal 10 Juni 2015 dan dinyatakan **LULUS**

Pembimbing I,



Angelica Kresnamurti, M. Farm., Apt.
NIK. 241.00.0441

Pembimbing II,



Dr. drh. Iwan Sahrial Hamid, M.Si.
NIP. 196807131993031009

Mengetahui,
Ketua Penguji



Wahyu Dewi Tamayanti, S.Si., M.sc., Apt.
NIK. 241.04.0574

LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui Skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Ekspresi COX-2 pada Jaringan Mata Tikus Katarak yang Diinduksi *Methyl Nitroso Urea* dengan Pemberian Fitopreventif Infus Daun Kitolod (*laurentia longiflora*)** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya,

Surabaya, Juni 2015



Maria Brigita Herdyana
2443011109

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini
adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari diketahui bahwa skripsi ini
merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia
menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan
dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, Juni 2015



Maria BrigitaHerdyana
2443011109

ABSTRAK

Ekspresi COX-2 Pada Jaringan Mata Tikus Katarak Yang Diinduksi *Methyl Nitroso Urea* Dengan Pemberian Fitopreventif Infus Daun Kitolod (*Laurentia longiflora*)

Katarak merupakan penyakit kekeruhan pada lensa mata karena hidrasi cairan lensa atau akibat denaturasi protein pada lensa. Penyakit katarak dapat meningkatkan ekspresi COX-2 bila terjadi inflamasi pada lensa yang disebabkan oleh agen fisik atau zat-zat kimia. Seperti pada penelitian ini digunakan zat kimia *Methyl Nitroso Urea* (MNU) untuk menginduksi katarak pada mata tikus, serta diberikan infus daun kitolod yang digunakan sebagai fitopreventif. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari ekspresi COX-2 pada percobaan tikus yang diinduksi MNU setelah diberikan infus air daun kitolod (*Laurentia longiflora*) sebagai fitopreventif. Sebanyak 24 ekor tikus *Wistar* dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok 6 ekor tikus. Perlakuan tiap kelompok ini diberikan selama 14 hari. Selanjutnya tikus dikorbankan dan diambil bola mata tikus untuk dibuat preparat dengan pewarnaan imunohistokimia. Jumlah sel yang mengekspresi COX-2 diamati di bawah mikroskop (400x). Data dianalisis menggunakan *Kruskal-Wallis Test* dan *Mann-Whitney Test*, serta membandingkan warna sel epitel mata yang mengekspresi COX-2 dalam tiap kelompok. Hasil *Kruskal-Wallis Test* dan *Mann-Whitney Test* menunjukkan perbedaan signifikan jumlah sel yang mengekspresi COX-2 dan warna sel epitel mata yang mengekspresi COX-2 juga terdapat perbedaan yang signifikan. Sel yang mengekspresikan COX-2 memberikan warna coklat/gelap dan yang tidak mengekspresi COX-2 memberikan warna ungu/ biru. Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini bahwa pemberian infus air daun kitolod (*Laurentia longiflora*) dapat mengurangi ekspresi siklooksigenase-2 (COX-2).

Kata kunci: Katarak, Ekspresi COX-2, *Methyl Nitroso Urea* (MNU), Infus daun kitolod.

ABSTRACT

COX-2 Expression in Eye Tissues of Methyl Nitroso Urea-Induced Cataract-Rats by Phytopreventive Administration of Kitolod (*Laurentia longiflora*) Leaves Infusion

Cataract is a cloudy condition in the lens of the eye due to hydration or proteins denaturation in eye lens. Cataract may increase the expression of COX-2 when inflammation occurs in the lens caused by physical agents or chemical substances. This study utilized a chemical substance, Methyl Nitroso Urea (MNU) to induce the occurrence of cataracts in the eyes of mice and administered by kitolod leaves infusion that used as a phytopreventive agent. This research was aimed for studying the phytopreventive activity of Kitolod (*Laurentia longiflora*) in the expression of COX-2 on MNU-induced rats after administration of its leaves water infusion. Twenty four of male Wistar rats were divided into 4 groups of six. The administration was conducted for 14 days to each group. Subsequently, the rats were sacrificed and the eyeballs were collected to be prepared for immunohistochemistry staining. The number of cells that COX-2 expressed was calculated under a microscope (400 times of magnification). Data collected were analyzed by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests. Color of eye epithelial cells that expressed COX-2 in each group was also compared. Results of the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests showed a significant difference in the number of cells that express COX-2. The color of eye epithelial cells that express COX-2 was also found to be different significantly among groups. Cells expressed COX-2 showed brown/dark in color, whereas cells in purple/blue showed no expression of COX-2. This study concluded that the infusion of the Kitolod (*Laurentia longiflora*) leave water infusion able to reduce the expression of cyclooxygenase-2 (COX-2).

Keywords: Cataract, COX-2 Expression, Methyl Nitroso Urea (MNU), Kitolod leaves water infusion.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan anugerah-Nya, sehingga penelitian dan penulisan skripsi dengan judul “Ekspresi COX-2 Pada Jaringan Mata Tikus Katarak Yang Diinduksi *Methyl Nitroso Urea* Dengan Pemberian Fitopreventif Infus Daun Kitolod (*Laurentia longiflora*)” dapat terselesaikan dengan baik. Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Skripsi ini dapat terselesaikan tidak lepas dari bantuan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini, dengan segala ketulusan dan kerendahan hati, saya sampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Drs.Kuncoro Foe, Ph.D., Apt selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, atas kesempatan yang diberikan sehingga dapat menimba ilmu dan belajar di Universitas ini.
2. Martha Ervina, M.Si., Apt selaku Dekan, Dr.Lannie Hadisoewignyo,, Apt selaku Wakil Dekan I dan Caroline, M.Si., Apt selaku Wakil Dekan II Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
3. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt selaku Ketua Program Studi Strata I Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
4. Angelica Kresnamurti, M.Farm., Apt, selaku Pembimbing I dan Dr.Iwan Sahrial, M.Si, drh., selaku Pembimbing II, yang telah menyediakan waktu dan tenaga, serta memberikan pengarahan,

sumbangan pemikiran, dorongan semangat yang sangat berharga dari awal penelitian ini hingga selesainya penyusunan skripsi ini.

5. Wahyu Dewi Tamayanti, M.Sc., Apt dan Dr. Mufasirin, M.Si, drh., selaku tim penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang sangat berguna untuk penyempurnaan skripsi ini.
6. Dra. Liliek Suyatmiatun M.S., Apt, selaku Penasehat Akademik yang telah mendampingi, memberikan arahan dan dukungan baik dalam kegiatan perkuliahan maupun penyusunan skripsi ini.
7. Seluruh Dosen Pengajar Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah mendidik saya selama menuntut ilmu Strata-1.
8. Seluruh staf tata usaha dan laboran Fakultas Farmasi : Pak Anang, Pak Antok, Pak Tri, Pak Dwi dan Pak Ari yang telah banyak membantu dalam segala hal hingga dapat diselesaikannya naskah skripsi ini.
9. Terima kasih kepada Ibu Agustin Supriyanti dari UGM atas kerja samanya dalam pembuatan preparat sehingga penulisan hasil skripsi ini dapat berjalan dengan lancar.
10. Kedua orang tua tercinta Bapak Edy dan Ibu Hermin yang selalu mendampingi, serta kakak tercinta Sari dan Tommy yang selalu memberi hiburan dan seluruh keluarga besar terima kasih untuk seluruh cinta, kesabaran, pengorbanan, kasih sayang, semangat, motivasi, dukungan moril maupun materiil serta segala doa yang senantiasa mengiringi, mulai dari kegiatan perkuliahan sampai penulisan skripsi ini.
11. Teman-teman satu penelitian “Cataract Group” : Dickna, Eka, Helena (Ciripa) dan Lusi terima kasih atas kebersamaan, dukungan, dan kesabaran selama penelitian hingga selesainya penyusunan skripsi ini.

12. Sahabat-sahabat tercinta dari “BRENK”: Evi, Sally pooh, Silvy, Villa, Tasya, Fanny, Meyli, Helena, Dickna, Johan, Eka, Ari dan Teman OMK: Della, Debi, Mbak yuyun dll terima kasih atas semangat dan dukungan yang selalu diberikan kepada saya dalam penyusunan skripsi ini.
13. Seluruh teman-teman angkatan 2011 yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terima kasih atas kebersamaan, dukungan dan semangatnya selama penyusunan skripsi ini dan dalam menuntut ilmu Strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
14. Serta semua pihak yang telah memberikan bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Sangat disadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akhir kata saya sangat mengharapkan segala kritik dan saran yang membangun untuk penyempurnaan skripsi ini. Skripsi ini dipersembahkan untuk almamater tercinta Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, semoga skripsi ini dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat bagi masyarakat pada umumnya dan bagi perkembangan ilmu kefarmasian pada khususnya.

Surabaya, Juni 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
BAB	
1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Hipotesis Penelitian.....	6
1.5. Manfaat Penelitian	6
2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Tinjauan Umum tentang Tanaman Kitolod.....	7
2.2. Tinjauan tentang Simplisia	12
2.3. Tinjauan tentang Ekstraksi	13
2.4. Tinjauan tentang Ekstrak.....	14
2.5. Tinjauan tentang Sediaan Mata	15
2.6. Tinjauan tentang Mata.....	17
2.7. Tinjauan tentang Tikus.....	21
2.8. Tinjauan tentang Katarak	24
2.9. Tinjauan tentang Inflamasi	27
2.10. Tinjauan tentang Enzim Siklooksigenase (COX).....	29

	2.11. Tinjauan tentang <i>Methyl Nitroso Urea</i> (MNU).....	31
	2.12. Tinjauan tentang Air Mata Buatan	32
3	METODE PENELITIAN	33
	3.1. Bahan Penelitian.....	33
	3.2. Alat Penelitian	34
	3.3. Unit Analisis Penelitian.....	35
	3.4. Variabel Penelitian	35
	3.5. Kerangka Operasional Penelitian	36
	3.6. Kerangka Konseptual Penelitian	38
	3.7. Tahapan Penelitian	38
	3.8. Penentuan Dosis	44
	3.9. Pembuatan Larutan <i>Methyl Nitroso Urea</i> (MNU).....	44
	3.10 Pengujian Aktivitas Infus Daun Kitolod pada Hewan Coba	45
	3.11. Pembuatan Parafin Blok Jaringan Mata	46
	3.12. Metode Pewarnaan Imunohistokimia	47
	3.13. Metode Pengamatan Ekspresi Siklooksigenase-2 (COX-2)	48
	3.14. Teknik Analisis Data.....	49
	3.15. Skema Penelitian.....	51
4	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	55
	4.1. Hasil Identifikasi Daun Kitolod	55
	4.2. Hasil Pengamatan Visual Mata Katarak.....	63
	4.3. Hasil Pengamatan Imunohistokimia Mata.....	65
	4.4. Pembahasan.....	73
5	KESIMPULAN DAN SARAN	82
	5.1. Kesimpulan	82
	5.2. Saran	82

DAFTAR PUSTAKA 83

LAMPIRAN 93

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. DETERMINASI TANAMAN	93
2. HASIL PERHITUNGAN UJI MUTU SIMPLISIA	94
3. HASIL UJI SKRINING FITOKIMIA	95
4. GAMBAR WARNA MATA TIKUS.....	96
5. HASIL ANALISA STATISTIK	97
6. TABEL CHI-SQUARE	103
7. SERTIFIKAT METHYL NITROSO UREA.....	104
8. SURAT KETERANGAN HEWAN PERCOBAAN	105
9. SERTIFIKAT ETHICAL CLEARENCE	106

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1. Rancangan Tabel Penelitian	54
4.1. Hasil Pengamatan Makroskopis Daun Kitolod.....	56
4.2. Hasil Pengamatan Mikroskopis Daun Kitolod	58
4.3. Hasil Pengamatan Organoleptis Simplisia Daun Kitolod	58
4.4. Hasil Uji Mutu Simplisia.....	58
4.5. Hasil Pengamatan Uji Sterilitas Infus Daun Kitolod	60
4.6. Hasil Pengamatan Uji Partikel Infus Daun Kitolod.....	61
4.7. Hasil Pengamatan Skrining Kandungan Kimia	62
4.8. Hasil Pengamatan Visual Perubahan Warna Mata	64
4.9. Hasil Pengamatan Warna yang Mengekspresi COX-2.....	70
4.10. Hasil Jumlah Sel Tiap Kelompok yang Mengekspresi COX-2	71
4.11. Hasil Uji <i>Mann-Whitney Test</i> Jumlah sel yang Mengekspresi COX-2.....	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Gambar Tanaman Kitolod	9
2.2. Gambar Bagian Luar Mata	17
2.3. Gambar Bagian Dalam Mata	18
2.4. Gambar Anatomi Mata Tikus Normal	23
2.5. Gambar Mata Normal dan Mata Katarak	24
2.6. Gambar Mata Tikus Katarak secara Mikroskopis	27
2.7. Skema Biosintesis Prostaglandin.....	30
2.8. Gambar Struktur Metil-N-Nitrosourea	31
3.1. Gambar Kerangka Operasional Penelitian.....	36
3.2. Gambar Kerangka Konseptual Penelitian.....	38
3.3. Gambar Ekspresi COX-2 pada Keratitis secara Mikroskopis	49
3.4. Skema Uji Standarisasi Simplisia Daun Kitolod	51
3.5. Skema Pembuatan Infus Daun Kitolod.....	52
3.6. Skema Pengujian Aktivitas Infus Daun Kitolod pada Hewan Coba	53
4.1. Gambar Makroskopis Daun Kitolod.....	55
4.2. Gambar Penampang Melintang Daun Kitolod	56
4.3. Gambar Irisan Epidermis Bawah Daun Kitolod dalam Media Air	57
4.4. Gambar Fragmen Epidermis Bawah Daun Kitolod dalam Media Air	57
4.5. Gambar Hasil Pengamatan Uji Sterilitas Infus Daun Kitolod	59

4.6.	Gambar Hasil Pengamatan Uji Partikel Infus Daun Kitolod .	61
4.7.	Gambar Hasil Pengamatan Uji KLT Infus Daun Kitolod.....	63
4.8.	Gambar Hasil Pewarnaan Imunohistokimia pada Kelompok Kontrol Sehat.....	66
4.9.	Gambar Hasil Pewarnaan Imunohistokimia pada Kelompok Kontrol Sakit	67
4.10.	Gambar Hasil Pewarnaan Imunohistokimia pada Kelompok Perlakuan 1	68
4.11.	Gambar Hasil Pewarnaan Imunohistokimia pada Kelompok Perlakuan 2	69